

インターフェロンの抗ウイルス活性発現における転写因子 Interferon Regulatory Factor-1 (IRF-1) の機能

著者	中山 勝敏
号	1248
発行年	1995
URL	http://hdl.handle.net/10097/21087

論 文 内 容 要 旨

目 的

インターフェロン (IFN) 系を制御する転写調節因子である IRF-1 (Interferon Regulatory Factor-1) は, IFN 刺激で誘導され, IFN 誘導遺伝子の転写活性化を通じて, 抗腫瘍・抗ウイルス等の IFN 作用発現に関与することが示唆されている。しかし, その詳細は未だ不明な点が多い。そこで, IRF-1 欠損マウス及び同由来細胞を用いて, 特に抗ウイルス活性に果たす IRF-1 の役割について解析することを目的としてこの研究を行った。

方法および結果

1) IRF-1 欠損 EF での, IFN 刺激による抗ウイルス活性発現。

IRF-1 欠損細胞, 野生型細胞を IFN にて前処理後, EMCV (encepharomyocarditis virus) に感染させ 24 時間後のウイルス収量を調べることで, 抗ウイルス状態の誘導性を判定した。IRF-1 欠損細胞では野生型細胞に比べ抗ウイルス状態の誘導は低いレベルであり, しかもその程度は IFN- α , γ で相異が見られた。すなわち, IFN- α 刺激の場合, IRF-1 欠損細胞の抗ウイルス活性は 250–500 U/ml の濃度で野生型細胞に比し 10–30 倍低いレベルであったが, 10^3 U/ml の高濃度では野生型細胞と同程度まで抗ウイルス状態が誘導された。一方 IFN- γ 刺激の場合, 10^3 U/ml の濃度でも IRF-1 欠損細胞における抗ウイルス活性は野生型細胞より 100–500 倍低いレベルのままであった。同様の実験を VSV (vesicular stomatitis virus), HSV (herpes simplex virus) について行ったが, EMCV の場合ほどの大きな差異は見られなかった。以上の結果から, IFN の抗ウイルスシステムには, IRF-1 経路を含め複数の経路が存在しており, IFN- α の場合は, IRF-1 経路を代償するメカニズムが働きうる可能性が示唆された。

2) IRF-2 欠損 EF 及び IRF-1・IRF-2 両遺伝子欠損 EF での IFN 刺激による EMCV に対する抗ウイルス活性発現。

IRF-1 と同じ認識配列 (IRF-E) に結合し, 転写抑制因子として働く IRF-2 が同定されている。IRF-E を持つ遺伝子は, 両者のバランスにより転写を制御され得ることから, IRF-1 欠損細胞で観察される現象は, IRF-2 の作用が増強された影響を観ている可能性も考えられる。そこで, EMCV 感染での現象が IRF-1 欠損によるのか, IRF-2 効果増大によるのかを調べる為, IRF-1, IRF-2 共に欠損した (Double Knockout: DKO) 細胞における抗ウイルス状態の誘導を検討した。その結果, IRF-2 欠損細胞では野生型細胞と同程度の抗ウイルス状態の誘導が認められたが, DKO 細胞では IRF-1 欠損細胞と同様に抗ウイルス状態の誘導は低いレベルであった。このこと

は、EMCV に対する IFN の抗ウイルス状態誘導が IRF-1 を介していることを示している。

3) IRF-1 欠損マウスに対する EMCV 感染実験。

IRF-1 欠損マウスに対する EMCV 接種の影響を検討し、同マウスの生存期間が野生型マウスに対し有意に短縮し（平均寿命にて、野生型：IRF-1 欠損＝7.6 日：4.4 日）、しかも標的臓器（脳、心臓）でのウイルス増殖が有意に増加していることを示した。IRF-1 が IFN の抗ウイルス活性誘導に重要であることが、生体レベルでも示された。

4) IRF-1 欠損 EF における、IFN 刺激による各種 IFN 誘導遺伝子の発現。

IRF-1 欠損細胞における IFN 誘導遺伝子の発現誘導をノーザン解析により調べ、野生型での発現誘導を基準として比較してみた。両 IFN による PKR, 1-8, 9-27 遺伝子の発現誘導は野生型細胞と同じレベルであった。一方、2-5OAS の発現誘導は IFN- γ 刺激時のみ半分ほどに減少した。更に、IFN- γ による iNOS 遺伝子の発現誘導は認められなかった。また、GBP 遺伝子の発現誘導は IFN- α 刺激時に若干（2.5 分の 1 倍）、IFN- γ 刺激時に劇的（40 分の 1 倍）に低下していた。このように、IRF-1 依存性が IFN 誘導遺伝子の間で異なることが示された。

結 論

1) IFN による抗ウイルス活性誘導において、ある種のウイルス（EMCV）に対し IRF-1 が重要な役割を担っており、また、その重要度（依存性）も、IFN- α より IFN- γ の方が高いことが示された。

2) IFN 誘導遺伝子の発現における IRF-1 依存性は様々であり、2-5OAS と特に GBP, iNOS の遺伝子発現は IFN- γ 刺激時に強い IRF-1 依存性を示した。

3) 以上から、IRF-1 は幾つかの標的遺伝子の転写調節を通じて、IFN による抗ウイルス作用発現経路の一部を担っており、その重要度が各ウイルスに対して異なっていると考えられる。したがって IFN は、この IRF-1 経路を含め様々な経路の作用の総和として多種のウイルスに対する抵抗性を実現しているといえる。

審 査 結 果 の 要 旨

本論文はインターフェロン（IFN）の抗ウイルス作用について研究をしたものである。

IFN は、IFN 誘導遺伝子群の発現を通じて、抗ウイルス、抗腫瘍、細胞分化等の生理活性を示すサイトカインである。I 型 IFN の転写制御因子として同定された IRF-1 は、IFN 刺激でも発現誘導され、多くの IFN 誘導遺伝子の転写活性化をおこない得ることが明らかとなり、IFN 作用発現に関与していることが示唆されている。しかし、その詳細は未だ不明な点が多い。そこで、IRF-1 欠損マウス及び EF を用いて、特に抗ウイルス活性に果たす IRF-1 の役割について解析した。

その結果、IFN- α あるいは IFN- γ 刺激により誘導される EMCV に対する抗ウイルス作用が、IRF-1 欠損 EF において著明に低下していた。この現象は特に IFN- γ の場合に顕著であった。また、EMCV 感染実験において、IRF-1 欠損マウスは野生型に比べ短気に死亡し、標的臓器でのウイルス収量も増加していたことから、IRF-1 欠損マウスが野生型マウスに比べ EMCV に対する抵抗性が低いことが明らかとなった。一方、他の二種類のウイルスに対しては、野生型と IRF-1 欠損 EF との抗ウイルス状態誘導に明らかな差は見られなかった。

したがって、IFN によるある種のウイルスに対する抗ウイルス作用の誘導には IRF-1 を介した機構が必要であり、一方 IFN は IRF-1 の経路を含め複数の遺伝子制御経路を活性化しそれぞれの標的遺伝子産物の作用の総和として多種のウイルスに対する抵抗性を実現していることが示唆された。

本研究は、IFN の抗ウイルス作用を明らかにした重要な研究である。また、本研究は T. Kimura, K. Nakayama et al. Involvement of the IRF-1 transcription factor in antiviral responses to interferons. Science 264 : 1912-1924, 1994. としてすでに発表されている。故に、博士論文として十分値すると考えられる。